14-04

研究用試薬

MF-start

初代細胞スターティング培地

(Code : TMMFS-001)

取扱説明書

＜ご注意＞

本製品は使用は研究用に限定されています。ヒトまたは動物への適用及び
臨床診断用への使用は出来ません。

この度は、「MF-start / 初代細胞スターティング培地」 をお買い上げ頂きありがとうございます。
皆様の研究・評価試験に有効にお使い頂くためにご使用前に必ず、
本取扱説明書をお読み下さい。

A4336K

「 MF-start／初代細胞スターティング培地 」は組織から分離後の初期増殖に最適になるよう調製した培地で、血清量を 10% 含みます。添付の培地添加剤を加えるだけで簡単に調製ができます。

（1） 本品内容

【MF-start （基礎培地）】

◇容量： 225ml ◇本数： 1本 ◇保存温度： 冷蔵 ◇有効期限： 御到着後1ヶ月、培地調製後は3週間

【Start Supplement （添加剤）】

◇容量： 25ml ◇本数： 1本 ◇保存温度： 冷凍 ◇有効期間： 冷凍保存で3ヶ月、冷蔵保存で1週間

（2） 製品の受け入れ

製品が入庫したら直ちに開封し、培地等の液漏れはないか、添加剤の不足・破損はないかご確認下さい。

異常がある場合は、直ちに 東洋紡(株)ライフサイエンス事業部（大阪 TEL:06-6348-3786、東京 TEL:03-6887-8819） までご連絡下さい。

（3） 培地、培地添加剤の保存

MF-start（基礎培地）は冷蔵保存（4℃）して下さい。添加剤（Start Supplement）は冷凍保存(-20℃)して下さい。また、溶解後は冷蔵保存（4℃）して下さい。使用期限は添付ラベルに記載されています。的確な実験を行って頂く為にも取扱説明書に記載の使用期限を守って御使用下さい。（なお、添付の製品出荷明細書に記載の「有効期間」は出荷可能期間を示します。ラベル添付の使用期限とは異なる場合がありますのでご注意ください。）

（4） 製品概要

① MF-start(基礎培地), 225ml

組織から分離後の初期増殖に必要な各種ｱﾐﾉ酸、ﾋﾞﾀﾐﾝ、及び抗生物質（ﾍﾟﾆｼﾘﾝ・ｽﾄﾚﾌﾟﾄﾏｲｼﾝ）を含みます。

冷蔵保存で1ヶ月以内にご使用下さい。冷凍保存は不可です。

② Start Supplement（添加剤）、25ml

細胞の増殖に必要な増殖因子溶液です。冷凍保存で3ヶ月以内にご使用下さい。

（5） 調整方法

① 培地添加剤を37℃の恒温槽あるいは室温で解凍します。

② 基礎培地及び培地添加剤の容器を 70% ｴﾀﾉｰﾙで拭き、ｸﾘｰﾝﾍﾞﾝﾁ内に入れる。以下の操作は無菌的に行います。

③ 下記の容量の培地添加剤を基礎培地に添加します。

内容	希釈率	標準混合容量
MF-start （基礎培地）	―――	225ml
Start Supplement （添加剤）	10倍希釈	25ml

④ 穏やかに混合します。

（6） 利用方法

① 細切方法、酵素処理方法などにより組織から目的とする細胞を調製します。

② 分離した細胞、若しくは処理した組織を本培地により培養します。

③ 4～10日間 培地交換せず、本培地で培養します。

④ 細胞がコロニー様に増殖しはじめたら、所定の増殖培地で培地交換を行います。細胞増殖が緩慢なときは引続きMF-startで培養します。

⑤ 以後、定法に従い細胞培養を行います。

※ 増殖培地としては弊社MF-medium®のご使用をお薦め致します。

（7） 使用例

I. マウス骨髄由来間葉系幹細胞

① マウス（C54BL/♂）８週齢を頚椎脱臼屠殺し、エタノール消毒をする。
② 大腿部皮膚を切開し、関節部を保持したまま、大腿骨を切り出す。
③ 大腿骨をPBSで洗浄し、関節両端を鋏で切り落とす。
④ 大腿骨の一方の断端から注射器でDMEMを吹込み、骨髄内の細胞塊（プラグ）をシャーレ内に押出す。
⑤ 細胞塊をピペッティングでほぐし、細胞を回収する。
⑥ 遠心操作を行い、上清を捨てる。
⑦ 細胞沈殿をマウス1匹分当たり 5～10ml の **MF-start** で浮遊せさ、フラスコに植え込む。
⑧ ４～７日間培地交換せず、そのまま培養を行う。
⑨ 細胞がコロニー状に増殖してきたら、適当な増殖培地に交換し、以後定法に従い培養を行う。

II. 脂肪前駆細胞、軟骨細胞

① 脂肪組織、或いは軟骨組織を摘出し、シャーレ上でメスを用いて約1mm^3の大きさに細切する。
② 約10～20倍量の 0.1%コラゲナーゼ-DMEM に組織を懸濁させ、50mlファルコンチューブに約20～30ml容量になるよう分注する。
③ 恒温シェーカーなどで37℃で約1時間攪拌する。
④ 未消化残渣をメッシュやストレーナーで除去した後、遠心操作により細胞を回収する。
⑤ 細胞沈殿をDMEMでもう一度洗浄する。
⑥ 細胞沈殿を適当量の **MF-start** で浮遊させ、フラスコに植え込む。
⑦ ４～７日間培地交換せず、そのまま培養を行う。
⑧ 接着細胞が増殖してきたら、適当な増殖培地に交換し、以後定法に従い培養する。

III. 繊維芽細胞

① 皮膚組織片を細切する。
② シャーレ中央部に 100µl の **MF-start** を滴下し、その中に組織片を入れる。
③ 組織片の上に滅菌処理したカバーガラスなどをのせ暫く静置する。
④ ガラス周縁部の培地が少し乾きはじめたらガラス片を動かなさないようにゆっくり **MF-start** を適当量入れる。
⑤ 7～10日間培地交換せず、そのまま培養を行う。
⑥ 組織周縁部から細胞が遊走増殖してきたら、カバーガラスをゆっくり外し、適当な増殖培地に交換する。以後定法に従い培養する。

※ *培地添加剤を添加後は、冷蔵保存にて3週間以内にご使用下さい。また、継代等にご使用される場合は、必要量だけを37℃に保温して使うことをお勧めします。*

■ご注意

- **本製品は研究用に限定されています。ヒトまたは動物への適用及び臨床診断用への使用は出来ません。**
- **本製品の使用によって生じたいかなる事故あるいは損害についても弊社では責任を負いかねます。ご了承の上御使用ください。**

■製造・販売元　東洋紡株式会社
（大阪）ライフサイエンス事業部　〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目２番８号
Tel:06-6348-3786　FAX:06-6348-3833
（東京）ライフサイエンス事業部　〒104-8345 東京都中央区京橋一丁目 17 番 10 号 住友商事京橋ビル
Tel:03-6887-8819　FAX:03-6887-8951